IN VITRO EXPERIMENTE

MIT TRIPHENYLZINNAZETAT

Karl Friedrich Muschel

1964

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548301_0112

AUS DEM MAX V. PETTENKOFER-INSTITUT FÜR HYGIENE
UND MEDIZINISCHE MIKROBIOLOGIE DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
(Vorstand: Prof. Dr. Dr. H. Eyer)

IN VITRO EXPERIMENTE MIT TRIPHENYLZINNAZETAT

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Karl Friedrich Muschel

aus Bad Waldsee

München 1964

Dissertations-Druckerei Charlotte Schön, München 23, Belgradstr. 11, Tel. 361402

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Professor Dr. G. LINZENMEIER
Mitberichterstatter:	Professor Dr. Dr. H. EYER
Dekan:	Professor Dr. R. BACHMANN

Tag der mündlichen Prüfung: 14.4.1964

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

INHALTSÜBERSICHT

		Seite
A.	EINLEITUNG (Literaturübersicht)	5
	1. Versuche mit Zinn und anorganischen Zinnsalzen	5
	2. Versuche mit organischen Zinnverbindungen	9
B.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	11
	I. Material	11
	1. Nährmedien	11
	2. Stämme	12
	3. Substanzen	12
	4. Physikalische Daten	12
	II. Methodik	13
	1. Reihenverdünnungsteste	13
	2. Variation der Reihenverdünnungsteste durch Zusätze mit	15
	a) Serum	15
	b) Natriumthioglykolat	15
	c) Speichel	15
	3. Diffusionsteste	15
	4. Praediffusion	16
	5. Subkulturen	16
	6. Resistenzsteigerung	17
	7. Keimträgerversuch	17
	III. Ergebnisse	25
	1. Reihenverdünnungsteste und deren Variation	25
	2. Diffusionsteste	30
	3. Praediffusion	33
	4. Subkulturen	39
	5. Resistenzsteigerung	39
	6. Keimträgerversuch	41
	7. Zusammenfassende Reihenverdünnungsteste	42
	8. Zusammenfassende Diffusionsteste	43
C.	DISKUSSION	45
D.	ZUSAMMENFASSUNG	48
E.	LITERATUR	49
F.	ANHANG (Tabellen)	52

Die zunehmende Resistenzentwicklung pathogener Bakterien macht neue chemotherapeutische Stoffe erforderlich, auf welche die resistenten Keime ansprechen (16b). Anstelle der allgemein anwendbaren können solche treten, die nur lokal angewendet werden dürfen, um den Wert der sog. "großen" Antibiotika nicht durch mögliche Resistenzentwicklung zu schmälern.

Insofern schien die Prüfung eines lokal anwendbaren organischen Zinnsalzes von Wert zu sein, das auf Bakterien und Pilze wirksam sein soll, bisher aber nur im Pflanzenschutz Verwendung gefunden hat. Es handelt sich um das Triphenylzinnazetat, das als "Brestan®" (12) Pilzinfektionen bei Kulturpflanzen und Bäumen verhindert, in der Humanmedizin aber bisher keinen Eingang gefunden hat. Da seine Wirkung im wesentlichen auf der des Zinns beruht, soll zunächst die diesen Fragen gewidmete Literatur behandelt werden.

LITERATURÜBERSICHT

VERSUCHE MIT ZINN UND ANORGANISCHEN ZINNSALZEN

Die Zahl der einschlägigen Arbeiten zur Hemmwirkung von Zinn auf Mikroben ist recht gering.

1911 stellte BITTER (3) als erster eine geringe oligodynamische Wirkung des Zinns im Vergleich mit anderen Metallen fest. So trocknete er u. a. Bouillonkulturen auf einem Zinnmetallstück ein und untersuchte nach verschiedenen Zeiten die bakterizide Wirkung des Metalls (Tab. 1). Vibrio cholerae wurde am leichtesten von Zinn angegriffen; schon nach 3 1/2 Stunden waren sämtliche Keime abgetötet. Bact. typhi dagegen wurde in den ersten 6 Stunden nur in seiner Virulenz geschwächt, während die bakterizide Wirkung erst nach 16 Stunden eintrat. Bei Staph. aureus war überhaupt keine Wirkung zu beobachten.

Eingehender befaßten sich FROUIN und GREGOIRE (9) 1917 mit der Wirkung des metallischen Zinns und von einigen seiner anorganischen Verbindungen bei Staphylokokkeninfektionen. Sie stellten fest, daß Zinnarbeiter niemals an Furunkulose litten und Zinn ein volkstümliches Heilmittel gegen diese Krankheit darstellte.

Sie gaben vor der Sterilisation in anaerobe Nährbouillon 2-wertiges Zinnchlorid, Zinnoxyd oder metallisches Zinn. Dabei wurde das Wachstum der Einsaat gehemmt. Nach der 3. oder 4. Passage war kaum noch Wachstum zu beobachten. Versetzten sie Nährbouillon mit 1:100 Laktose, Maltose, Glukose oder Lävulose, so ergab sich dabei in aerobem Milieu kaum ein Unterschied im Wachstum der Keime. Neben diesen Versuchen in vitro wurden Kaninchen mit 3 ccm einer Staphylokokkensuspension, der die verschiedenen Zinnsalze beigefügt wurden, intramuskulär injiziert, und die Überlebenszeiten beobachtet (Tab. 2). Injektionsmaterial ohne Zinnsalz ergab eine Überlebenszeit von 6 Tagen, die durch Zugabe

Tab. 1. Die oligodynamische Wirkung des Zinns. (nach BITTER)

Die Bakterienkulturen wurden auf einem Zinnmetallstück eingetrocknet und nach verschiedenen Zeiten in Bouillon bebrütet.

Aussaat in Bouillon nach Stunden	1	2	3 1/2	6	16	24	48	Art der Erreger
Wachstum in den Röhren nach Tagen	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	
	+ + + + +	o + + + +	o + + + +	o + + + +	o o o o o	o o o o o	o o o o o	Bact. typhi
	+ + + + +	+ + + + +	o o o o o	o o o o o	o o o o o	o o o o o	o o o o o	Vibrio cholerae
	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	Staph. aur.

Tab. 2. Tierversuche mit verschiedenen anorganischen Zinnsalzen. (FROUIN)

Das Injektionsmaterial besteht aus einer 24-stündigen bewachsenen Bouillon (Staph. aureus), der die verschiedenen Zinnsalze beigefügt wurden.

Nr.	Gewicht	Injektionsmaterial	überlebt in Tagen
18	3200	3 ccm 24-stündige Bouillonkultur	6
5	2490	Metastannat	9
54	3110	Zinn-"Protochlorür"	12
40	2990	Zinn-Oxyd	7
41	2000	Zinn-Pulver	11

Tab. 3. Tierversuche mit verschiedenen anorganischen Zinnsalzen. (FROUIN)

Die Tiere wurden erst 12 Stunden nach der Staphylokokkeninfektion mit den Zinnsalzen intravenös injiziert.

Nr.	Gewicht	Injektionsmaterial	überlebt in Tagen
59	2280	0,1 g Zinnchlorür	2
57	2260	0,1 g "	6
45	2130	0,1 g "Zinnhydrat"	9
58	2280	0,1 g "	10

von Zinn und einigen seiner Verbindungen verdoppelt werden konnte. Wurden die Tiere erst 12 Stunden nach der Infektion mit den Zinnsalzen behandelt, so wurde der Tod bis zu 8 Tagen verzögert (Tab. 3). Verfütterung von 2 g Zinn und Zinnoxyd pro die an Hunde zeigte keine toxischen Schäden, sondern lediglich eine Gewichtszunahme bei Zinn und eine Gewichtsabnahme bei Zinnoxyd. Eine hinreichende Begründung dieser Ergebnisse fehlt.

Auf Grund dieser Untersuchungen erhielten 50 Patienten, die an Furunkulose litten per os 0, 5 - 1 g metallisches Zinnpulver, ein Gemisch von Zinn und Zinnoxyd. In allen Fällen verschwanden die Furunkel innerhalb von 5 - 14 Tagen. Rezidive traten innerhalb von 6 Monaten nicht mehr auf. Mehrere Patienten waren vorher erfolglos mit den damals üblichen Methoden und Vakzinationen behandelt worden.

Diese sehr aussichtsreichen Versuche mit Zinn gegen Staphylokokken wurden 1924 von T. RICO (20) als äußerst zweifelhaft hingestellt.

Drei Jahre darauf bewies FONTES (8) - wie vor ihm schon BITTER- die besondere oligodynamische Wirkung des Zinns gegen Tuberkelbakterien. Bei einer Einsaat von 1:5000 auf Glyzerinagar hemmte nicht nur Zinnimmersion, sondern bloßes Einwickeln des Pfropfens in Zinnfolie das Wachstum der Keime.

Diesen Untersuchungen ging DOS SANTOS (21) 1929 nach und stellte im Dilutionstest fest, daß unabhängig davon, ob die Keime auf festen oder flüssigen Nährböden gewachsen waren, das Zinn keinerlei Einfluß auf das Wachstum der Keime ausübte. Der Verfasser konnte auch nach einem Monat keine Hemmung erkennen. Auch morphologisch-mikroskopisch ließen sich keine Veränderungen aufweisen.

Die sehr exakt erscheinenden Untersuchungen von DOS SANTOS wurden 1948 von den Amerikanern REITLER und MARBERG (19) widerlegt. Sie bewiesen erneut die bakterizide Wirkung des Zinns auf Bakteriensuspensionen und griffen die 1923 von HOTCHKISS unternommenen Untersuchungen auf, der die Zinnionen in ihrer bakteriziden Wirkung zwischen die bakterienfeindlichen Quecksilberionen und die schwach wirkenden Natriumionen einreihte.

REITLER und MARBERG stellten eine sterile Zinnsuspension in Ringerlösung her (2 g Zinnpulver auf 5 ccm Ringerlösung) und besaten diese mit B. typhi, E. coli, Pseudonomas pyocyanea, Staph. aureus, Strept. faec., Salmonella, S. dysenteriae, Pasteurella pestis und Brucella melitensis. Davon wurden je in ein Röhrchen mit Zinn und in eines ohne Zinn 10 Millionen Keime pro ccm inokuliert, täglich eine Öse davon auf eine Agarplatte ausgestrichen und die Kolonien nach 24 Stunden gezählt. Nach den Versuchsergebnissen wurden fast alle Erreger gehemmt oder ganz zerstört.

Ähnliche Versuche wurden auch in vivo ausgeführt (19). Typhuskranke erhielten am ersten Tag je nach Alter 4 - 20 Tabletten und die folgenden 9 Tage 2 - 10 Tabletten zu 0, 012 g Zinn; diese Tabletten bestanden aus kolloidalem

Zinn und Zinnstearat. REITLER und MARBERG beobachteten eine Verminderung der Zahl von Todesfällen, einen kürzeren Krankheitsverlauf und eine günstige Beeinflussung der Bakteriämie. Die Erfolge beruhten darauf, daß die Bakterien in den intestinalen Lymphknoten eine Zinnanreicherung erfuhren. Die Behandlung mußte allerdings früh einsetzen. Die Verfasser untersuchten auch toxische Schädigungen, auf die später noch einzugehen ist.

VERSUCHE MIT ORGANISCHEN ZINNVERBINDUNGEN

Sämtliche bisher besprochenen Zinnverbindungen waren anorganischer Natur. Erst in neuerer Zeit wurden organische Zinnverbindungen untersucht. WHITE (22) erkannte zuerst die hochtoxische Wirkung des Triäthylzinnazetats bei Hunden, Kaninchen und Fröschen, was diese Verbindung von vornherein von chemotherapeutischen Untersuchungen ausschloß. COLLIER (6) fand eine wechselnde Toxizität von Tetraphenylzinn nach Triphenylzinnbromid über Hexaphenyldistannat und Propyltriphenylzinn. Die Wirksamkeit dieser Verbindungen kam in Mitteln gegen Motten und andere Insekten zum Ausdruck. Seit kurzem nutzt man auch seine Wirksamkeit in einem Desinfektionsmittel, dem INCIDIN-M, das gegen Fußpilze spezifisch wirksam ist (7).

Die letzten und bisher eingehendsten Untersuchungen über die bakterienfeindliche Kraft organischer Zinnverbindungen unternahmen VAN DER KERK und LUIJTEN (13a), Mitarbeiter der internationalen Zinnforschungsstelle in London. Untersucht wurden folgende vier Haupttypen:

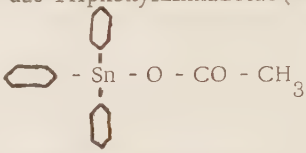
Typ I	$R_4 Sn$
Typ II	$R_3 SnX$
Typ III	$R_2 SnX_2$
Typ IV	$R SnX_3$.

R ist das organische Radikal. X kann organischer und anorganischer Natur sein, ist aber im Gegensatz zu R nicht durch eine Zinn- Kohlenstoffverbindung an das Zinnatom gebunden. R und X wurden nun variiert. Das führte zu ungefähr 40 Verbindungen, deren fungizide Wirkung erforscht wurde (13a).

Die Wirksamkeit dieser Stoffe wurde nach der Rollkulturmethode (13a, c) bestimmt. Sporenmaterial waren: Botrytis allii, Penicillinum italicum, Aspergillus niger, und Rhizop. nigricans. Der beimpfte Agar, der eine bekannte Menge des Zinnsalzes enthielt, wurde 24 Stunden bebrütet und die Hemmungsdosis bestimmt. Zunächst wurden die vier Grundtypen der organischen Zinnverbindungen neben zwei anorganischen Zinnverbindungen untersucht (13a). Letztere erwiesen sich als bedeutend unwirksamer; die geringe Wirksamkeit des Zinns selbst läßt sich also in Form organischer Verbindungen steigern.

Innerhalb der getesteten organischen Zinnverbindungen zeigte sich das Tri-äthylzinnchlorid vom Typ II am wirksamsten. Deswegen wurden die Ver-

suche mit dieser Verbindung fortgesetzt und X variiert, was ohne bemerkenswerten Einfluß auf die Aktivität der Verbindung blieb. Somit erkannte man die Wichtigkeit der Gruppe R in R_3 SnO.CO.CH_3 und substituierte R sowohl mit steigender Anzahl von Kohlenstoffatomen, als auch mit einem Benzolring und stieß dabei zum erstenmal auf das Triphenylzinnazetat (13a).



Triphenylzinnazetat

Die Wirksamkeit des Triphenylzinnazetats, - im folgenden als TPZA bezeichnet -, wird lediglich vom Propyl- und Butylradikal übertroffen, kann aber nicht durch Substitution eines Tolyl- oder Benzylradikals übertroffen werden, wie Untersuchungen in jüngster Zeit ergaben (13a). Die geringere Wirksamkeit der übrigen getesteten Verbindungen wurde auf eine schlechtere Löslichkeit in Wasser zurückgeführt (13b).

Das TPZA wurde in seinen fungiziden Möglichkeiten schon seit 1940 geprüft und 1961 als das Pflanzenschutzmittel "Brestan" herausgegeben, welches im Vergleich mit anderen Wirkstoffen eine ausgezeichnete Dauerwirkung und eine relativ geringe Giftigkeit für Tier und Pflanze aufweist (12).

Über die Wirksamkeit des TPZA auf bakterielle Erreger ist bisher nichts bekannt geworden. Da es als Rachendesinfiziens Verwendung finden soll, schien eine Untersuchung der TPZA-Wirkung gegen Keime der Mundhöhlenschleimhaut angebracht.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

MATERIAL UND METHODIK

Nährmedien.

Die richtige Wahl und Zusammensetzung der Nährmedien ist für das Wachstum der Bakterien von besonderer Wichtigkeit (14). Variation der physikochemischen Bedingungen, des Salzgehaltes oder des pH-Wertes kann bei ein und derselben Bakterienkultur eine Schwankung der Hemmungsdosis von 2-3 Zehnerpotenzen umfassen (14). Um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten wurden die Nährböden sorgfältigst nach den Vorschriften des Hygiene-Instituts München hergestellt.

Die Reihenverdünnungsteste wurden ausschließlich in peptonhaltiger Nährlösung durchgeführt. Für diese Peptonbouillon wird anstatt Fleischwasser und 1% Pepton eine 2 1/2%-ige Lösung von Pepton e carne verwendet. In dem aus Rindfleisch gewonnenen Pepton e carne ist noch eine "Zuckerspitze" bis zu 0,1% Dextrose enthalten. Auf 1000 ml aqua dest. kommen 25 g Pepton e carne und 5 g Kochsalz; der pH-Wert beträgt wie üblich 7,4.

Außerdem wurden an flüssigen Nährmedien für Subkulturen in aerobem Milieu Thioglykolat-Bouillon hergestellt (fertige Nährböden der Fa. BBL (Baltimore Biological Laboratory)) mit folgender Zusammensetzung:

Trypticase	15,0	Na-Thioglykolat	0,5
1-Cystin	0,5	Resazurin	0,001
Dextrose	5,0	Agar Agar	0,75
Hefe Extrakt	5,0	Aqua dest.	1 000,0
NaCl	2,5		

Die Zusammensetzung der Peptonbouillon wurde durch Zugabe von einem Tropfen Serum oder Na-Thioglykolatlösung zu 1 ml der Nährbouillon so variiert, daß sich eine 2,5%ige Lösung in Bouillon ergab. Diese Thioglykolatbouillon sollte die bakterizide Wirkung des Zinns aufheben.

Als feste Nährböden kamen Peptonagar und für Diffusionsteste speziell sog. Resistenzagar in Frage. Ferner wurden noch Frischblutagar und Kochblutagar verwendet.

Peptonagar enthält in einem Liter Wasser 20 g Fadenagar, 25 g Pepton e carne und 5 g NaCl.

Frischblutagar konnte aus Peptonagar hergestellt werden. Dazu wurden 900 ml Peptonagar im Wasserbad auf 50° C abgekühlt und 100 ml steril defibriniertes Hammelblut dazugemischt; das sind also 8 - 8,5% Blut im Agar.

Kochblutagar erhielt man auf folgende Weise: Zu 925 ml Peptonagar kamen 75 ml steriles auf 80° C erwärmtes Blut. Der Prozentgehalt beträgt hier

nur 7 - 7,5%.

Resistenzagar enthält anstatt Pepton e carne Fleischextrakt und zum besseren Wachstum der Bakterien Dextrose. 1000 ml aqua dest. enthalten 20 g Agar, 5 g NaCl, 10 g Fleischextrakt und 0,1 % Dextrose.

Bei sämtlichen Nährböden wurde nach Lösung der Zutaten der pH-Wert auf 7,4 eingestellt und der verflüssigte Agar zur Klärung gefiltert und bei 121° C und 1,0 atü im Autoklaven sterilisiert.

Stämme

Die getesteten Erreger stammten hauptsächlich aus frisch gezüchtetem menschlichem Untersuchungsgut. Sie waren somit kaum älter als 24 Stunden und gewährleisteten durch Weiterzüchtung in mindestens drei Passagen auf festen Nährböden eine hinreichend reine, homogene Einsaat für Reihenverdünnungsteste.

In der Mehrzahl wurden grampositive Keime getestet, als Staphylokokken, Enterokokken, hämolysierende Streptokokken, Pneumokokken und einige Meningokokken; daneben auch Sproßpilze der Candida-Gruppe. Von den gramnegativen Keimen wurden E. coli, Pseusonomas pyocyanea, Klebsiella-Aerobacter und Proteus vulg. untersucht.

Substanzen

Als Testsubstanz wurde ausschließlich das Triphenylzinnazetat geprüft, auf dessen chemische Struktur bereits in der Einleitung auf Seite 10 hingewiesen wurde.

Physikalische Daten

TPZA ist ein weißes kristallines Pulver. Nach Mitteilung der Farbwerke "HOECHST" (12) liegt sein Schmelzpunkt bei 124° - 125° C. Seine Haltbarkeit ist bei trockener und kühler Lagerung unbegrenzt. Die fungiziden und biologischen Eigenschaften des TPZA werden durch Hydrolyse des Salzes zu Triphenylzinnhydroxyd, welche 8 Stunden nach Wasserzugabe eintritt, nicht geschmälert. Seine geringe Löslichkeit im Wasser (0,002 g in 100 ml) macht andere Lösungsmittel erforderlich. In Frage kamen absoluter Äthylalkohol und Lutrol 9, ebenfalls ein Alkohol.

Maximal ließen sich in einem ml Äthylalkohol unter vorsichtigem Erwärmen 10 mg/ml TPZA lösen. Lutrol 9 erwies sich als ein bedeutend besseres Lösungsmittel, mit dem nahezu beliebige Konzentrationen des Zinnsalzes erzielt werden konnten. Leider kann es für die Beschickung von Testblättchen nur mit Vorbehalt angewendet werden, da es wegen seiner öligen Konsistenz nur sehr lang-

sam oder überhaupt nicht verdunstet. Beide Lösungsmittel haben den Nachteil, daß sich die gelöste Substanz nicht weiter mit Wasser verdünnen läßt, sondern sofort wieder ausfällt, wobei eine kolloidartige Lösung entsteht, in der sich nach Stunden, - beim Alkohol früher als bei Lutrol 9 -, das Zinnsalz wieder absetzt.

TESTMETHODIK (GELLERT, 10)

Die Hemmkonzentrationen der getesteten Erreger in γ/ml Triphenylzinnazetat wurden durch Reihenverdünnungsteste (KLEIN, 14) bestimmt. Als geeignetes Nährmedium fand die eingangs erwähnte Peptonbouillon Verwendung. Pneumokokken und Meningokokken wuchsen erst mit einem Zusatz von einem Tropfen Rinderserum pro ml. Das Zinnsalz wurde ab 10 γ/ml geometrisch verdünnt. Die Ausgangskonzentration für einige gramnegative Keime betrug 50 γ/ml. Um zuverlässige Werte zu erhalten, wurden große, mittlere und kleine Einsaaten unterschieden. In jedem Falle stammte das Keimmaterial von einer 20 Stunden alten bei 37° C bebrüteten Bouillon, die für die kleine Einsaat 1:500 verdünnt wurde. Das ergab eine Keimzahl von 800 000 pro ml. Von dieser vorverdünnten Kultur kamen 0, 5 ml auf dieselbe Menge wirkstoffhaltige Lösung. Somit betrug die Keimzahl zu Beginn des Versuchs ungefähr 400 000. Prinzipiell gleich wurde bei der mittleren und großen Einsaat verfahren. Für die mittlere Einsaat erwies sich eine Vorverdünnung von 1:100 als günstig. Das führte zu einer Keimzahl von 2 000 000 Keimen im Röhrchen. Die große Einsaat wurde 1:50 verdünnt und war mit 4 000 000 Keimen nahe der Sichtbarkeitsgrenze.

Die kleine Einsaat war geeignet für Staphylokokken, Enterokokken und gramnegative Keime, die mittlere Einsaat für Sproßpilze und eine große Einsaat war nötig bei den langsamer wachsenden hämolysierenden und vergrünenden Streptokokken, Pneumokokken und Meningokokken. Streptokokkenmaterial mußte vor der Einsaat etwas aufgeschüttelt werden, um eine diffusere Trübung zu erhalten; nach KLEIN (14) verfälschen größere Aggregate von Bakterien die Einsaat.

Die Bebrütungszeiten bei 37° C von 24 Stunden, 2, 3 und 4 Tagen, ermöglichten eine hinreichende Überwachung der Entstehung resistenter Varianten.

Um sicherzustellen, daß die im Rahmen der Verdünnungsreihe erzielte Alkoholkonzentration auf das Wachstum der Keime in keinerlei Weise hemmend wirkte, wurde eine Verdünnungsreihe eines zinnsalzempfindlichen Staph. aureus ohne TPZA hergestellt, so daß sich im ersten Röhrchen eine Konzentration von 5 % Alkohol vorfand. Nach 24 Stunden waren sämtliche Röhrchen gleichmäßig stark getrübt. Von der Seite des Alkohols darf also keine bakterienschädigende Wirkung erwartet werden.

Die Menge an Nährbouillon, war ohne nennenswerten Einfluß auf das Keimwachstum, wie durch zwei Verdünnungsreihen mit je 5 ccm und 1 ccm bewiesen werden konnte (Tab. 4, 5). Die Erreger wuchsen in 5 ccm der Bouillon etwas

Tab. 4. Reihenverdünnungstest mit TPZA gegen Staphylokokken.
Reihe mit 5 ccm Peptonbouillon pro Röhrchen (a) und
mit 1 ccm Peptonbouillon pro Röhrchen (b).
(Zeichenerklärung siehe am Schluß der Tabelle)

Test (a)

Art des Erregers	Konzentration in γ/ml										Kontrolle	Wachstum nach Tagen
	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195		
Staph.	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
aureus	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+		6!

Test (b) Tab. 5

Art des Erregers	Konzentration in γ/ml										Kontrolle	Wachstum nach Tagen
	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195		
Staph.	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1
aureus	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		6!

Zeichenerklärung:
o = kein Wachstum
(+) = schwache Trübung
+ = deutliche Trübung

schneller, nach 2 und 3 Tagen waren die Reihen gleich bewachsen und nach einer Woche bestand in 5 ccm eine geringe Trübung der nächst höheren Konzentrationsstufe. Diese geringgradigen Unterschiede dürfen vernachlässigt werden.

Variation der Reihenverdünnungsteste durch Zusätze

Die Hemmwirkung des Triphenylzinnazetats mußte mit verschiedenen Zusätzen zur Peptonbouillon der Verdünnungsreihe geprüft werden. Dabei kamen Rinderserum, Natriumthioglykolat und Speichel in Frage.

Der Serumzusatz zur Bestimmung des Eiweißfehlers (4, 14) wurde bei verschiedenen Keimen ermittelt (Tab. 7). Ob die Keime auch noch nach längerer Einwirkung des Zinnsalzes lebensfähig sind, wurde durch Serumzugabe nach verschiedenen Zeiten der Inokulation getestet (Tab. 8). Fünf Reihen wurden gleichzeitig mit Staph. aureus (8716) beimpft. Der ersten Reihe wurde sofort nach Beimpfung ein Tropfen Serum pro Röhrchen zugegeben, der zweiten Reihe erst nach 4 Stunden, der dritten nach 8 Stunden, der vierten nach 24 Stunden, und der letzten Reihe nach 2 Tagen. Wie üblich wurde das Wachstum 3 Tage lang beobachtet und anschließend von sämtlichen noch unbewachsenen Röhrchen aller fünf Reihen Subkulturen angelegt.

Methodisch gleich war die Untersuchung der Natriumthioglykolatwirkung. Thioglykolsäure oder ihr Natriumsalz heben bekanntlich die bakterizide Wirkung stark entwicklungshemmender Stoffe auf Schwermetallbasis auf (15). Diese Ausschaltung des Schwermetalls ermöglichte die Prüfung der entwicklungshemmenden Wirkung des organischen Teils der Verbindung für einige Keime und nach verschiedenen Zeiten (Tab. 11). Dafür ist ein Zusatz von 2, 5 mg steril gelösten Natrium-Thioglykolats zu 1 ml Nährbouillon erforderlich (15).

Die Möglichkeit einer lokalen Anwendung von Zinnsalzen im Munde oder Rachen wurde durch Zugabe von 1 Tropfen steril gefilterten Speichels zu Staph. aureus geprüft.

Diffusionsteste

Die im Reihenverdünnungstest gewonnenen Ergebnisse wurden durch den Diffusionstest (KLEIN, 14) erweitert, sofern es sich um die Ermittlung von Hemmzonen und Beeinflussung durch Serumeiweiß handelte. Durchgeführt wurden die Hemmhoftests mit Testblättchen von 6 mm Durchmesser der Fa. Schleicher & Schüll (Nr. 22) und mit zahnradförmigen Papierträgern nach LINZENMEIER mit Enden von 5 mm Durchmesser (16c). Die Nährböden (Resistenzagar, Frischblutagar, Kochblutagar) wurden mit 1 - 2 Ösen einer 15 - 20 Stunden alten flüssigen Kultur beimpft und gleichförmig ausgespatelt. Die Hemmhofzonen wurden nach 20 Stunden Bebrütung bei 37° C nach Durchmessern abgelesen.

Die Frage der Dosierung konnte u. a. durch Beschickung der Testblättchen

mit 200 γ, 100 γ und 40 γ (Tab. 12) und der "Zahnrader" von 40 γ an geometrisch abwärts (Tab. 13) gelöst werden. Konzentrationen von 100 γ und 200 γ ließen sich nur in Lutrol herstellen. In Alkohol konnten höchstens 10 mg/ml gelöst werden. Diese Stammlösung ergab eine Menge von 40 γ/Zahnradende. Getestet wurden auf Resistenzagar Sproßpilze, gramnegative Keime, sowie Staphylokokken und Enterokokken, auf Frischblutagar die Streptokokken und Pneumokokken (Tab. 12-13).

In einem besonderen Versuch wurde nachgewiesen wieviel zur Ausbildung eines Hemmhofes von der Substanz abdiffundiert war (Tab. 14). Das Zahnrad wurde nach jeweils 24-stündiger Diffusion, bzw. Bebrütung, abgenommen und erneut auf eine mit frischer Bouillon desselben Stammes von Staphylokokken beimpfte Platte aufgelegt (LINZENMEIER, 16a).

Um vergleichbare Werte zu erhalten, spielt auch die Wahl des Lösungsmittels eine Rolle (Tab. 15). Die Testblättchen wurden mit gleichen Chargen von Lutrol 9 und Alkohol gelöster Substanz beschickt.

Ebenfalls von Bedeutung war das verwendete Keimmaterial. Die Platten wurden mit der üblichen Nährbouillon und mit der Suspension einer leicht getrübten Abschwemmung mit physiologischer Kochsalzlösung eines 20 Stunden bebrüteten festen Nährbodens beimpft (Tab. 16).

Die hemmungsaufhebende Wirkung des Serums wurde auch im Diffusionstest auf Frischblutagar, Kochblutagar und zum Vergleich auf Peptonagar an Hand von Staphylokokken, Enterokokken und vergrünenden Streptokokken nachgewiesen (Tab. 10).

Die im Reihenverdünnungstest ermittelten Hemmwerte wurden mit jenen im Diffusionstest mit 40 γ - Blättchen an ungefähr 100 Staphylokokken und 50 Enterokokken verglichen (Tab. 24).

Praediffusion

Die Geschwindigkeit, mit welcher das TPZA vom Filterpapier abdiffundierte, ergab sich auch aus den Praediffusionsversuchen (Tab. 17), (KLEIN, 14).

Mehrere Resistenzagarplatten wurden mit demselben Keimmaterial gleichzeitig beimpft, mit Testblättchen von 200 γ, 100 γ und 40 γ belegt und erst nach verschiedenen Wartezeiten von 4° C bei 37° C bebrütet. Die Hemmhofgröße gab dann Aufschluß über die Diffusionsgeschwindigkeit des Mittels.

Die Temperatur von 4° C verhinderte ein zu frühes Anwachsen der Keime von 1/2 h bis zu 48 Stunden.

Subkulturen

Der Charakter der Hemmwirkung des Triphenylzinnazetats konnte durch Anlegen von Subkulturen gedeutet werden (KLEIN, 14). Ausspateln von ein bis zwei Ösen des jeweils nach 2 Tagen unbewachsenen Röncheninhalts aus dem Rei-

henverdünnungsversuch auf geeignete, im allgemeinen feste Nährböden, gab Aufschluß über die bakteriostatische bzw. bakterizide Kraft des Mittels (Tab. 18-19).

Befinden sich in den klar gebliebenen Röhrchen nur bakteriostatisch gehemmte Keime, so werden diese sich auf einem neuen Nährboden wieder vermehren; kein Wachstum bedeutet demnach Bakterizidie. Wegen des Anspruchs an den Nährboden wurden Pneumokokken, hämolysierende Streptokokken und Sproßpilze auch auf Thioglykolatbouillon überimpft. Dieses Nährmedium "bindet" die letzten Reste des hemmenden Zinns.

Die Hemmungsform wurde auch durch Zugabe von Natriumthioglykolat nach 1, 2 und 3 Tagen Wachstum zu Reihenverdünnungsversuchen mit Staphylokokken in Peptonbouillon nachgewiesen und etwaiges Nachwachsen bis zu 4 Tagen beobachtet. Die Natrium-Thioglykolatlösung enthielt die geforderten 2, 5 mg pro Tropfen (15), so daß sich im Röhrchen eine Konzentration des Natriumthioglykolats von 0, 25 % ergab. (Tab. 20)

Resistenzsteigerung

Bei häufiger Anwendung eines bakterienschädigenden Mittels ist es von Bedeutung, ob sich die Resistenz der Keime gegen diesen Stoff steigert (14). Mit Keimmaterial des jeweils ersten bewachsenen Röhrchens wurde eine neue Reihenverdünnung angelegt. Vor der 10. und letzten Passage wurden die Keime nicht direkt zur Einsaat verwendet, sondern erst in Peptonbouillon überimpft, in der sie sich 20 Stunden erholen konnten (Tab. 21).

Keimträgerversuch

Die desinfizierende Kraft des TPZA wurde im Keimträgerversuch nach den allgemein gültigen Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel geprüft (15). Mit Staphylococcus aureus beimpfter Schrägagar wurde mit 5 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und die 1 cm langen Seidenfäden damit getränkt. Die getrockneten Keimträger wurden nun unterschiedlich lang in Konzentrationen der TPZA-Lösung gegeben (Tab. 22). Damit der Alkohol als Lösungsmittel keinen störenden Einfluß auf das Wachstum der Keime ausüben konnte, mußte mit Wasser weiter verdünnt werden. Folglich fiel bei der verwendeten 0, 2 %igen Zinnsalzlösung ein Teil des Salzes wieder aus. Die mit physiolog. Kochsalzlösung abgespülten Keime wurden hernach sowohl in 0, 25 %iger Natriumthioglykolatbouillon als auch in Peptonbouillon bebrütet.

Tab. 6. Reihenverdünnungsteste mit TPZA gegen gramnegative Bakterien.

Zeichenerklärung: o = kein Wachstum
(+) = schwache Trübung
\+ = deutliche Trübung

Art der Erreger	Konzentration in γ/ml					Kontrolle	Wachstum nach Tagen
	50	25	12,5	6,25	3,13		
Proteus vulg.	o	(+)	+	+	+	+	1
7881	(+)	+	+	+	+	+	2
	+	+	+	+	+	+	3
Klebsiella-	o	(+)	+	+	+	+	
Aerobacter	o	+	+	+	+		
7845	o	+	+	+	+		
E. coli	o	(+)	+	+	+	+	
W 629	o	+	+	+	+		
	o	+	+	+	+		
Pseudonomas	o	+	+	+	+	+	
pyocyanea	o	+	+	+	+		
7713	+	+	+	+	+		

Tab. 7. Reihenverdünnungsteste mit Triphenylzinnazetat. Die Keime wurden mit Serumzusatz getestet.

Zeichenerklärung: P = Peptonbouillon
PS = Peptonbouillon + Serum
(übrige Zeichen siehe Tab. 6)

Art der Erreger	Konzentration in γ/ml										Kontrolle	Wachstum nach Tagen	Nährbouillon
	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195			
Staph. aur. 8012	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1	P
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		2	
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		3	
	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		PS
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+			
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+			
Staph. aur. 8716	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		P
	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+			
	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+			
	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		PS
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+			
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+			
häm. Strept. L 63	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		P
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+			
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+			
	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+		PS
	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+			
	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+			

Fortsetzung von Tab. 7.

Art der Erreger	Konzentration in γ/ml										Kontrolle	Wachstum nach Tagen	Nährbouillon
	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195			
vergr. Strept. 8619	o	o	o	o	o	o	o	o	o	(+)	+		P
	o	o	o	o	o	o	o	o	o	+			
	o	o	o	o	o	o	o	o	+	+			
	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+	1-2	PS
"Enterokokken" 8649	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1-2	P
	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		PS
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+			
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+			
Candida alb. 9432	o	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+		P
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+			
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+			
	o	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+		PS
	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+			
	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+			

Tab. 8. Fünf Reihenverdünnungsteste mit Triphenylzinnazetat von Staphylococcus aureus Nr. 8716

Nach verschiedenen Zeiten wurde in die Reihen ein Tropfen Serum dazugegeben. (Zeichenerklärung siehe Tab. 6).

Reihe Nr.	Wachstum in Stunden bis zur Serumzugabe	Konzentration in γ/ml										Kontrolle	Wachstum in Tagen nach Serumzugabe
		10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195		
I	0	o	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
		o	+	+	+	+	+	+	+	+	+		2
		o	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
II	4	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		
		o	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+		
III	8	o	o	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	
		o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		
		o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		
IV	24	o	o	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	
		o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		
		o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		
V	48	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+	
		o	o	o	+	+	+	+	+	+	+		
		o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		
	Kontrolle	o	o	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+	
	ohne	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		
	Serum	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		

Tab. 9. Subkulturen von gramnegativen Bakterien eines Reihenverdünnungstestes mit Triphenylzinnazetat nach 18 Stunden auf Peptonagar bebrütet. Zeichenerklärung siehe Tab. 19.

Art der Erreger	Konzentration in µ/ml			Kontrolle
	50	25	12,5	
E. coli	(o) o	((+)) ++	(+) +++	+
Klebsiella Aerobakter	(o) o	((+)) +	(+) +++	+

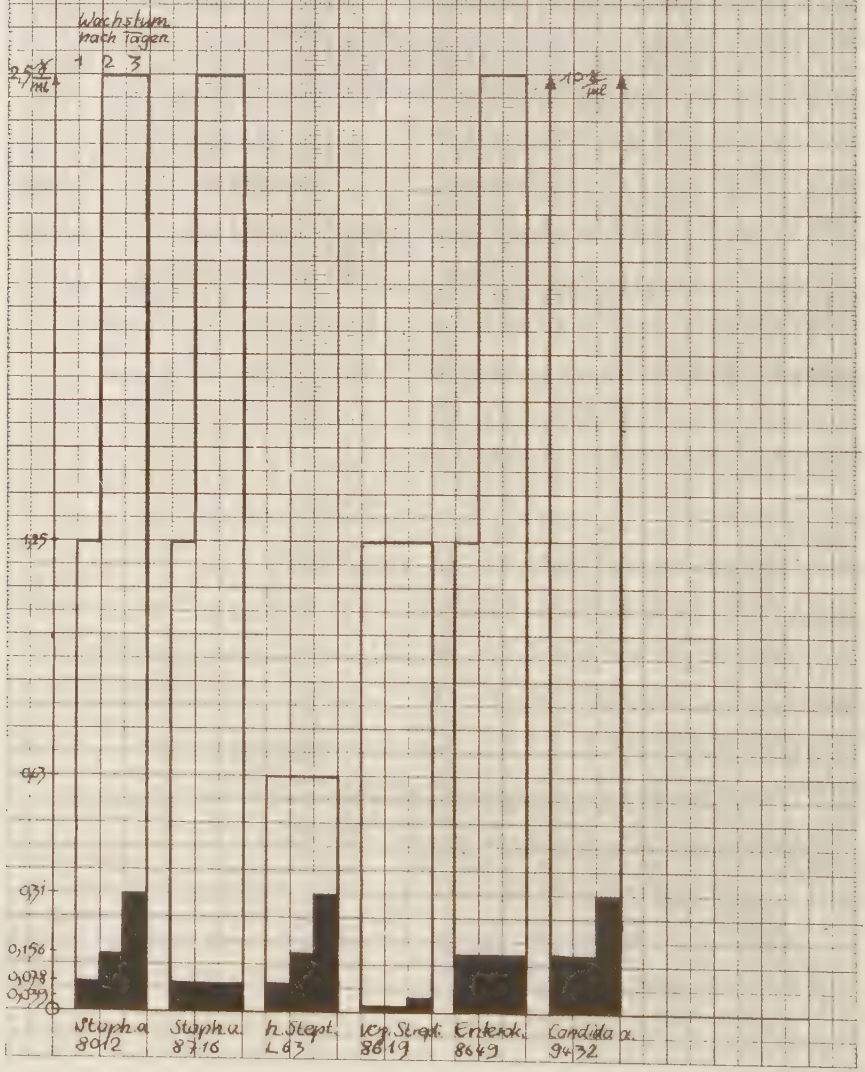
Tab. 10. Vergleichende Hemmhofteste auf Peptonagar, Frischblutagar und Kochblutagar. "Reihenverdünnung" auf dem "Zahnrad" mit TPZA.

Zeichenerklärung:

PA = Peptonagar
FBlA = Frischblutagar
KBlA = Kochblutagar

Art der Erreger	Konzentration in γ/ml						Nährboden
	40	20	10	5	2,5	1,25	
Staph. aureus	18	16	14	14	12	10	PA
8716	8	7	6	6	5	5	FBlA
	6	6	5	5	4	4	KBlA
Staph. aureus	18	15	14	13	12	12	PA
9036	8	7	6	6	5	5	FBlA
Staph. aureus	17	15	13	13	13	12	PA
9311	7	7	6	5	5	4	FBlA
Staph. aureus	15	13	13	11	11	8	PA
9341	7	6	6	6	6	5	FBlA
Staph. aureus	20	19	18	17	15	14	PA
9348	8	8	7	7	6	5	FBlA
C. albicans	21	19	18	18	16	15	PA
W699	9	9	8	8	7	6	FBlA
C. albicans	18	16	14	13	12	11	PA
9416	9	8	8	7	7	5	FBlA
C. albicans	21	19	18	17	15	12	PA
9423	9	8	8	7	7	6	FBlA
Strept. faec.	13	11	10	7	7	6	PA
9780	6	6	6	5	5	4	FBlA
vergr. Strept.	8	8	6	6	6	5	FBlA
8619	6	6	5	4	4	4	KBlA

Abb. 1. Hemmungsaufhebende Wirkung von Serumeiweiß im Reihenverdünnungstest mit TPZA gegen grampositive Bakterien. (s. Tab. 7)
Wachstum ohne Serum ▬, mit Serum ▭



Zu Beginn war eine Reihe orientierender Versuche notig, um das Wirkungsspektrum des Triphenylzinnazetats zu erfahren.

Gramnegative Erreger ließen sich weder im Reihenverdünnungstest noch im Diffusionstest in ihrem Wachstum bedeutend hemmen. Klebsiella-Aerobacter und E. coli wurden erst mit 50 γ/ml gehemmt; Proteus vulg. und Ps. pyocyanea wuchsen auch bei diesen Konzentrationen nach (Tab. 6). Im Hemmhoftest kam es mit 40 γ-Blättchen auch nicht zur Ausbildung kleinster Hemmhöfe. E. coli wies lediglich bei 100γ- und bei 200γ-Blättchen Hemmzonen von höchstens 8 mm auf (Tab. 12).

Zahlreiche grampositive Erreger erwiesen sich als empfindlich und wurden deswegen in ihrem Verhalten gegen das Zinnsalz eingehender geprüft.

Aus Abb. 1 geht hervor, daß bei Zusatz von Serum die Hemmwerte für Staphylokokken um das 16-fache höher liegen, für hämolysierende Streptokokken um das 32-fache, während ein Stamm (L 36) auf Serumzusatz nur einen 8-mal höheren Hemmwert aufweist. Bei vergrünenden Streptokokken steigt der Wert auf das 64-fache an. Enterokokken (8649) haben nur einen 8-mal größeren Hemmwert und Candida albicans (9423) einen 32-mal größeren als ohne Serum.

Aus Tab. 8 ist ersichtlich, daß nachträgliche Serumzugabe die gehemmten Erreger auch noch nach Tagen als lebend erweist. Gibt man 4 Stunden nach der Inokulation das Serum zu, so erholen sich die Keime am dritten Tag bei der üblichen Hemmdosis von 10γ. Versucht man die Keime erst nach 8 Tagen zu "retten", dann läßt sich etwa noch die Hälfte als lebend nachweisen. Die Wirkung des TPZA dürfte also nach 4 - 8 Stunden maximal einsetzen.

Die Subkulturen sämtlicher unbewachsener Röhrchen aus Tab. 8 waren negativ.

Eine Resistenzsteigerung des ersten bewachsenen Röhrchens aus Tab. 8 konnte nicht beobachtet werden. Im Diffusionstest erzeugten Keime, die nach 2 Tagen nachgewachsen waren, jedoch einen 2 mm kleineren Hemmhof. In der Deutung so geringer Hemmhofunterschiede ist allerdings Vorsicht geboten (16, a, d).

Der Einfluß von Serumeiweiß führte auch im Diffusionstest zur Ausbildung nur sehr kleiner Hemmzonen (Tab. 10). Diese waren mit 40- und 20γ-Dosen für Staphylokokken und Candida albicans 10 mm kleiner und für Enterokokken ungefähr 6 mm kleiner. Die auf Kochblut sichtbaren Hemmhöfe sind nur um 2 mm kleiner als die auf Frischblutagar.

Die hemmungsaufhebende Dosis des Natriumthioglykolats auf Zinn entsprach ungefähr den Werten der Eiweißbindung (Tab. 11). Hämolysierende Streptokokken wiesen mit 2, 5γ genau dieselben Hemmwerte auf. Sproßpilze

Tab. 11. Vergleichende Reihenverdünnungsteste mit Triphenylzinnazetat in verschiedener Nährbouillon mit gleichen Keimen. Verwendet wurden: PB = Peptonbouillon
PBS = Peptonbouillon + Serum
PBT = Peptonbouillon + Na-Thioglykolat
(weitere Zeichen siehe Tab. 6.)

Art der Erreger	Konzentration in γ/ml										Kontrolle	Wachst. nach Tagen	Nähr-bouillon
	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195			
Staph. aur. 8716	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1-3	PB
	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+	1	PBS
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		2	
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+			
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1	PBT
Candida a. 9423	o	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+	1	PB
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		2	
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		3	
	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1-3	PBS
	o	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	1	PBT
	((+))	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+		2	
	((+))	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+		3	

Fortsetzung zu Tab. 11.

Art der Erreger	Konzentration in γ/ml										Kontrolle	Wachst. nach Tagen	Nähr-bouillon
	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195			
Pneumo-	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+	1	PBS
coccus	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+	+		2	
9425	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+		3	
	o	o	o	o	o	o	(+)	(+)	+	+	+		PBT
	o	o	o	o	o	o	(+)	(+)	+	+			
	o	o	o	o	o	(+)	(+)	(+)	+	+			
Strept.	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		PB
haem.	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+			
L 63	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+			
	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+	1-3	PBS
	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+	1-3	PBT

lagen mit 10γ und Pneumokokken mit 0,313γ um einen Hemmwert tiefer, und bei Staphylokokken wurde die Wirkung des Zinnsalzes in der ganzen Reihe aufgehoben.

In Reihenverdünnungstesten mit Staph. aureus stellte sich heraus, daß es gleichgültig war, wann das Natriumthioglykolat dazugegeben wurde. Die Keime wuchsen auch noch bei Zugabe nach 2 Tagen nach.

Speichel vom Menschen (steril filtriert) blieb ohne Einfluß auf das Wachstum der Erreger.

Tab. 12. Hemmhofteste mit 40γ, 100γ und 200γ dosierten Testblättchen. Lösungsmittel ist Lutrol 9.
Angabe der Zahl der Stämme unter den Hemmhofkategorien.

Art der Erreger	Hemmhöfe mit Durchmesser in mm								Konzentr. in γ pro Testblätt.
	6-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	19-20	21-22	
Sproßpilze	-	-	-	-	2	1	5	-	40
Sproßpilze	-	-	-	-	1	1	5	1	100
häm. Strept.	-	-	6	1	-	-	-	-	
Pneumokokken	-	-	1	4	1	-	-	-	
E. coli	15	-	-	-					
Sproßpilze	-	-	-	-	-	2	5	1	200
häm. Strept.	-	-	4	3	-	-	-	-	
Pneumokokken	-	-	-	3	3	-	-	-	
E. coli	15	-	-	-					

Tab. 13. Hemmhofteste am "Zahnrad". 40 µ geometrisch verdünnt. Angabe der Zahl der Stämme unter den Hemmhofkategorien.

Art der Erreger	Hemmhöfe mit Durchmesser in mm							Konzentration in µ/Zahnrad-ende
	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	
Staph. aur.	-	-	-	-	4	3	5	40
	-	-	-	3	3	5	1	20
	-	-	-	4	6	2	-	10
	-	-	3	4	5	-	-	5
	-	1	3	6	2	-	-	2,5
	-	3	6	3	-	-	-	1,25
"Enterokk."	-	-	-	1	3	-	1	
	-	-	-	4	-	1	-	
	-	-	2	2	-	1	-	
	-	1	2	1	-	1	-	
	-	3	1	1	-	-	-	
	1	4	-	-	-	-	-	
häm. Strept.	-	5	-	-				
	2	3	-	-				
	5	-	-	-				
	5	-	-	-				
	3	-	-	-				
	2	-	-	-				
vergr. Strept.	1	3	1	-				
	1	4	-	-				
	2	2	-	-				
	3	1	-	-				
	4	-	-	-				
	4	-	-	-				

Tab. 14. Hemmhöfe bei mehrmaligem Auflegen der Testsubstanz gegenüber Staph. aureus. Das Zahnrad wurde jeweils nach 24 Stunden abgenommen und auf eine mit frischer Bouillon ausgespatelte Platte aufgelegt.

Ablesung nach Stunden	Konzentration des TPZA in γ			
	40	20	10	5
24	17	14	12	
48	9	7	7	
72	8	7	5	

Diffusionsteste

Einleitend mußte die jeweils zweckmäßigste Dosierung der Testblättchen bestimmt werden. Aus Tab. 12 ist ersichtlich, daß bei C. albicans eine Konzentration von 40 γ/Blättchen genügt, da sich bei höheren Konzentrationen kaum größere Hemmhöfe erzielen lassen. Streptokokken und Pneumokokken zeigen bei einer Dosierung von 100γ bereits beachtliche Hemmzonen von durchschnittlich 11 - 12 mm für hämolysierende Streptokokken und 13 - 14 mm für Pneumokokken. Diese Werte liegen bei einer Dosierung von 200γ um ungefähr 1 - 2 mm höher.

Die geometrische Verdünnung am Zahnrad (Tab. 13) ergab für Staphylokokken mit 40γ Hemmhöfe zwischen 13 und 18 mm und mit 20γ 2 mm kleinere. Bei der geringsten Konzentration von 1,25γ wurden 9 - 10 mm gemessen. Enterokokken bildeten im Schnitt 3 mm kleinere Durchmesser als Staphylokokken.

Diese Beobachtung ließ sich noch durch die Abgabeversuche (Tab. 14) festigen. Nach der dritten Auflage bildeten immer noch letzte Reste von Zinnsalz 8 mm große Hemmhöfe. Es diffundiert also niemals die ganze Menge des Mittels an das Agargel ab.

Somit erweist sich eine Beschickung der Testblättchen mit 40γ für empfindliche Keime als günstig. Hämolysierende Streptokokken und Pneumokokken geben zwar mit 100γ -Blättchen größere Hemmhöfe, doch besteht die Gefahr, daß dann bei deren Deutung die Serumhemmung nicht berücksichtigt wird. Schließlich geben auch 40γ geringe, in Anbetracht der lokalen Anwendung des Mittels, durchaus verwertbare Ergebnisse.

Auch die Wahl des Lösungsmittels spielt eine Rolle (Tab. 15). Am Beispiel von C. albicans wird deutlich, daß mit Lutrol 9 getränkte Testblättchen mindestens 5 mm größere Hemmhöfe ergeben als solche, die mit Alkohol getränkt sind. Dies kann daran liegen, daß Lutrol im Gegensatz zu Alkohol nicht

Tab. 15. 40 γ TPZA gelöst in Alkohol bzw. in Lutrol 9 pro Testblättchen. Angabe der Zahl der Stämme unter den Hemmhofkategorien.

Art der Erreger	Hemmhöfe mit Durchmesser in mm							Lösungsmittel
	13-14	15-16	17-18	19-20	21-22	23-24	25-26	
C. albicans	5	7	4	2	-	-	-	Alkohol
C. albicans	-	-	-	-	1	2	3	Lutrol 9

Tab. 16. Hemmhofteste mit Keimmaterial von 24 Std. bebrüteter Peptonbouillon, bzw. von Keimsuspension. 40 γ, 100 γ und 200 γ Triphenylzinnazetat gelöst in Lutrol 9 pro Testblättchen. Angabe der Zahl der Stämme unter den Hemmhofkategorien.

Zeichenerklärung: PB = Peptonbouillon
KS = Keimsuspension

Art der Erreger	Hemmhöfe mit Durchmesser in mm							Keimmaterial	Konztr. in γ
	13-14	15-16	17-18	19-20	21-22	23-24	25-27		
Candida a.	-	-	-	-	1	2	3	PB	40
	-	2	1	5	-	-	-	KS	
	-	-	-	-	1	1	4	PB	100
	-	1	1	5	1	-	-	KB	
	-	-	-	-	-	1	5	PB	200
	-	-	3	5	-	-	-	KB	

verdunstet. Feuchte Testblättchen führen auch mit Alkohol zu größeren Hemmzonen, da das gelöste Zinnsalz im Diffusionsvorgang besser mittransportiert wird.

Als geeignetes Keimmaterial zur Testung der Sproßpilze bewährte sich eine Keimsuspension (Tab. 16). Durch das dichtere Wachstum erhielt man im allgemeinen 5 mm kleinere, doch hinreichend scharf begrenzte Hemmhöfe.

Tab. 17. Praediffusionsversuch mit C. albicans und Staphylokokken. Gleichzeitig beimpfte und mit Testblättchen beschickte Nährböden werden nach verschiedenen Zeiten bebrütet.

Art der Erreger	Praediffusion nach Stunden									Konzentration in ⅄/Testbl.
	0	1/2	1	2	4	6	8	24	48	
C. albicans 2049	26	27	27	28	28	29	-	39	-	200⅄
Staph. aureus 616	20	20	21	21	22	23	24	30	40	
Staph. aureus 609	21	22	21	22	22	22	24	34	45	
C. albicans 2049	25	27	26	28	29	32	-	37	-	100⅄
Staph. aureus 616	18	20	20	21	22	22	24	30	40	
Staph. aureus 609	20	20	21	22	22	22	24	31	45	
C. albicans 2049	19	22	24	23	25	25	-	30	-	40⅄
Staph. aureus 616	14	17	17	17	16	17	-	25	-	
Staph. aureus 609	15	17	17	17	16	18	-	31	-	

Praediffusionsversuch

Aus Tab. 17 geht hervor, daß TPZA nur sehr langsam, aber stetig, vom Filterpapier abdiffundiert. 6 Stunden nach Auflage der Testsubstanz beträgt der Diffusionsvorsprung für jede Konzentration höchstens 2 mm und nach einem Tag 10 mm. Diese geringe Diffusionsgeschwindigkeit wird aber konstant die folgenden 24 Stunden beibehalten, wie am Beispiel der Staphylokokken ersichtlich ist. Demnach ist das Depot an Testsubstanz in keinem Falle zu klein, da doch niemals alles in erfaßbaren Zeiten abdiffundiert. Also genügt eine Beschickung der Testblättchen mit 40 γ, bei der möglichst frühzeitig eine Stabilisierung der Verteilung erreicht ist.

Die Hemmhöfe sind bei längerer Diffusionszeit erheblich größer. Anders ist das z.B. bei Penicillin, das sehr schnell abdiffundiert und augenblicklich reelle Hemmhöfe bildet (16). Ebenso wird die Aussage "resistent" für hämolysierende Streptokokken in serumhaltigen Nährböden nur vorgetäuscht, obwohl sich bei hinreichend langer Praediffusion keine größeren Hemmzonen mehr erzielen lassen, da die Eiweißbindung offensichtlich die Wirksamkeit verhindert. Im Reihenverdünnungstest sind die hämolysierenden Streptokokken ohne Serumzusatz empfindlich.

Tab. 18. Subkulturen von Staphylokokken. Bouillon sämtlicher nach 2 Tagen unbewachsener Röhrchen auf Peptonagar bebrütet.

Zeichenerklärung:

o = kein Wachstum
+ = geringes Wachstum
++ = deutliches Wachstum
+++ = starkes Wachstum
k = Anzahl der Kolonien
( ) = erstes bewachsenes Röhrchen aus dem Reihenverdünnungsversuch (Tab. 30)

Stamm Nr.	Konzentration des Triphenylzinnazetats in γ/ml							Nährboden
	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	
2535	o	3k	+	+	++	+++	(+++)	Peptonagar
2609	o	o	o	4k	1k	+	(+++)	"
2616	o	o	o	4k	5k	+++	(+++)	"
2621	o	o	2k	5k	+	(+++)		"
2622	o	o	o	4k	++	+++	(+++)	"

Tab. 19. Subkulturen von C. albicans eines Reihenverdünnungstestes mit Triphenylzinnazetat nach 3 Tagen auf Peptonagar und in Thioglykolatbouillon bebrütet.

Zeichenerklärung:

PA = Peptonagar ( ) = Reihenverdünnung nach drei Tagen

TB = Thioglykolatbouillon

(weitere Zeichen siehe Tab. 18)

Stamm Nr.	Konzentration in γ/ml					Kontrolle	Bouillon überimpft auf
	0,313	0,156	0,078	0,039	0,019		
1413	(o)	(o)	(o)	(++)	(+++)	(+++)	
	o	o	o	+	++		PA
	o	o	+++	+++	+++		TB
1548	(o)	(o)	(++)	(++)	(+++)	(+++)	
	o	o	+	+	++		PA
	o	+	+++	+++	+++		TB
1554	(o)	(o)	(+)	(+++)	(+++)	(+++)	
	o	o	o	++	+++		PA
	o	o	+++	+++	+++		TB
1635	(o)	(o)	(+)	(++)	(+++)	(+++)	
	o	o	o	++	+++		PA
	o	++	+++	+++	+++		TB
1970	(o)	(o)	(+)	(+++)	(+++)	(+++)	
	o	o	+	+	+++		PA
	o	o	+++	+++	+++		TB
2094	(o)	(o)	(+)	(++)	(+++)	(+++)	
	o	o	o	++	+++		PA
	o	o	+++	+++	+++		TB
2283	(o)	(+)	(++)	(+++)	(+++)	(+++)	
	o	+	+	+++	+++		PA
	o	+++	+++	+++	+++		TB
W 92	(o)	(+)	(++)	(+++)	(+++)	(+++)	
	o	o	+	+	+++		PA
	o	++	+++	+++	+++		TB

Tab. 20. Nachweis der Hemmungsform. Zugabe von Natriumthioglykolat zu den noch unbewachsenen Röhrchen einer Reihenverdünnung mit Staphylokokken in Peptonbouillon nach 1, 2 und 3 Tagen Bebrütung.

Zeichenerklärung: o = kein Wachstum
(+) = sehr schwaches Wachstum
\+ = deutliches Wachstum

Stamm Nr.	Konzentration von TPZA in γ/ml								Kontrolle	Wachstum ohne Thiogl. nach Tagen	Wachstum nach Zugabe von Thiogl. in Tagen
	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313			
601	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1	
	o	o	o	+	+	+	+	+	+		1
	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+		2
	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+		3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+		4
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	2	
	o	o	o	o	+	+	+	+	+		1
	o	o	o	+	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	+	+	+	+	+	+		4!
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	3	
	o	o	o	o	o	+	+	+	+		1
	o	o	o	o	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	+	+	+	+	+		3
	o	o	o	+	+	+	+	+	+		4

1. Fortsetzung von Tab. 20.

Stamm Nr.	Konzentration von TPZA in γ/ml								Kontrolle	Wachstum ohne Thiogl. nach Tagen	Wachstum nach Zugabe von Thiogl. in Tagen
	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313			
621	o	o	o	o	o	o	(+)	+	+	1	
	o	o	o	o	o	+	+	+	+		1
	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+		2
	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+		3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+		4
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	2	
	o	o	o	o	o	+	+	+	+		1
	o	o	o	o	o	+	+	+	+		4!
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	3	
	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+		1
	o	o	o	o	o	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	+	+	+	+		4!
646	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1	
	o	o	o	+	+	+	+	+	+		1
	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+		2
	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+		3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+		4
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	2	

2. Fortsetzung von Tab. 20.

Stamm Nr.	Konzentration von TPZA in γ/ml								Kontrolle	Wachstum ohne Thiogl. nach Tagen	Wachstum nach Zugabe von Thiogl. in Tagen
	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313			
	o	o	o	o	+	+	+	+	+		1
	o	o	o	+	+	+	+	+	+		2
	o	o	+	+	+	+	+	+	+		3
	o	o	+	+	+	+	+	+	+		4
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	3	
	o	o	o	o	o	+	+	+	+		1
	o	o	o	o	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	+	+	+	+	+		4!
679	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1	
	o	o	o	o	+	+	+	+	+		1
	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+		2
	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+		3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+		4
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	2	
	o	o	o	o	+	+	+	+	+		1
	o	o	o	o	+	+	+	+	+		2
	o	o	(+)	+	+	+	+	+	+		3
	o	o	+	+	+	+	+	+	+		4
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	3	

3. Forstsetzung von Tab. 20.

Stamm Nr.	Konzentration von TPZA in γ/ml								Kontrolle	Wachstum ohne Thiogl. nach Tagen	Wachstum nach Zugabe von Thiogl. in Tagen
	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313			
	o	o	o	o	o	+	+	+	+		1
	o	o	o	o	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	+	+	+	+	+	+		3
	o	o	o	+	+	+	+	+	+		4
681	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1	
	o	o	o	+	+	+	+	+	+		1
	+	+	+	+	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	2	
	o	o	o	o	+	+	+	+	+		1
	o	o	+	+	+	+	+	+	+		2
	o	o	+	+	+	+	+	+	+		4!
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	3	
	o	o	o	o	o	+	+	+	+		1
	o	o	o	o	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	+	+	+	+	+		4!

Subkulturen

Viele Erreger wurden bakterizid gehemmt. Subkulturen von Pneumokokken und hämolysierenden Streptokokken zeigten weder auf Frischblutagar noch in Thioglykolatbouillon Spuren von Wachstum. Ebenso negativ war der Befund von Klebsiella- und Coli-Keimen. Nicht ganz so streng bakterizid wirkte Triphenylzinnazetat bei Sproßpilzen, die auf Peptonagar oder in Thioglykolatbouillon gezüchtet wurden (Tab. 19). Hier konnte bei drei Stämmen (1413; 1548; 1635) Bakteriostase nachgewiesen werden, die aber schon bei der nächst höheren Konzentrationsstufe in Bakterizidie überging. Dieser Übergang verlief bei den Staphylokokken weniger steil (Tab. 18). Erst die 8-fache und in einem Fall sogar die 32-fache Menge an Zinnsalz hemmte sämtliche Erreger.

In einem größer angelegten Reihenverdünnungsversuch mit TPZA wurde die Hemmungsform an Staphylokokken noch näher untersucht (Tab. 20). Die Keime erwiesen sich nach einem Tag TPZA-Einwirkung nur als bakteriostatisch gehemmt, dadurch gekennzeichnet, daß sie auf Natrium-Thioglykolatzugabe schon nach dem ersten Tag um 1 bis 2 Konzentrationsstufen nachzuwachsen begannen und nach weiteren zwei Tagen die bakterio-statische Hemmung meist ganz aufgehoben war. - Gab man Na.-Thioglykolat erst nach zwei Tagen Wachstum dazu, so ließ sich im Gegensatz dazu höchstens ein Nachwachsen von 2 - 3 Konzentrationsstufen beobachten. Diese bakterizide Wirkung des TPZA äußerte sich nach drei Tagen TPZA-Einwirkung noch deutlicher. Die Keime wuchsen nur noch um 1 - 2 Konzentrationsstufen nach.

Diese Versuchsergebnisse konnten durch Anlegen von Subkulturen auf Peptonagar nach zwei und vier Tagen Wachstum nicht bestätigt werden. In keinem Falle wuchsen Keime an. Wahrscheinlich war der Nährboden für die stark angegriffenen Keime zu anspruchslos und die Anzahl der Keime zu gering.

Resistenzsteigerung (KLEIN, 14)

Schon nach der ersten Passage verdoppelte sich die Hemmkonzentration, blieb dann aber über Passagen konstant. Die Resistenz von Staph. aureus (621) erhöhte sich nach der VI. Passage (Tab. 21), von Stamm Nr. 622 nach der VII. Passage und von Nr. 609 nach der VIII. Passage um das 4-fache des Ausgangswertes. Staphylococcus Nr. 616 sprang ohne kontinuierlichen Übergang nach der 7. Passage auf einen 8-fachen Wert (Tab. 21).

Eine Zwischenpassage (IX) in hemmstoffreier Bouillon gab den Keimen wieder ihre ursprüngliche Resistenz zurück. Damit wäre lediglich eine Resistenzsteigerung ein und desselben Stammes während der Behandlung mit Zinnsalzen möglich.

Tab. 21. Resistenzsteigerung von Staphylokokken. Keimmaterial stammt von dem jeweils letzten bewachsenen Röhrchen. Vor der letzten Passage Keime in Peptonbouillon überimpft.

Stamm Nr.	Konzentration in γ/ml 2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	Passage Nr.	Stamm Nr.	Konzentration in γ/ml 2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	Passage Nr.
616	o	o	o	o	+	0	609	o	o	o	o	+	0
	o	o	o	+	+	I		o	o	o	+	+	I
	o	o	o	+	+	II		o	o	o	+	+	II
	o	o	o	+	+	III		o	o	o	+	+	III
	o	o	o	+	+	IV		o	o	o	+	+	IV
	o	o	o	+	+	V		o	o	o	+	+	V
	o	o	o	+	+	VI		o	o	o	+	+	VI
	o	o	o	+	+	VII		o	o	o	+	+	VII
	o	+	+	+	+	VIII		o	o	+	+	+	VIII
	o	o	o	o	+	IX		o	o	o	o	+	IX
622	o	o	o	o	+	0	621	o	o	o	o	+	0
	o	o	o	+	+	I		o	o	o	+	+	I
	o	o	o	+	+	II		o	o	o	+	+	II
	o	o	o	+	+	III		o	o	o	+	+	III
	o	o	o	+	+	IV		o	o	o	+	+	IV
	o	o	o	+	+	V		o	o	o	+	+	V
	o	o	o	+	+	VI		o	o	+	+	+	VI
	o	o	+	+	+	VII		o	o	+	+	+	VII
	o	o	+	+	+	VIII		o	o	+	+	+	VIII
	o	o	o	o	+	IX		o	o	o	o	+	IX

Tab. 22. Keimträgerversuch mit Staphylococcus aureus Nr. 8716.
Die mit Staph. a. infizierten Seidenfäden wurden unterschiedlich lang in Triphenylzinnazetatlösung verschiedener Konzentration gegeben und hernach in Peptonbouillon bebrütet.

Infizierte Fäden entnommen nach Minuten	Konzentration des Triphenylzinnazetats in %			
	0, 2	0, 1	0, 05	0, 025
1	+	+	+	+
3	o	+	+	+
5	o	+	+	+
10	o	o	+	+
30	o	o	+	+

Keimträgerversuch

In Peptonbouillon bebrütete Seidenfäden als "Keimträger" waren in 0, 1 %iger TPZA-Lösung ab 10 min. und in 0, 2 %iger Lösung schon nach 3 min. desinfiziert (Tab. 22). Ausschaltung der bakteriziden Nachwirkung in Thioglykolatbouillon ermöglichte das Wachstum der Bakterien bei allen in Tab. 22 angegebenen Konzentrationen und Zeiten.

Diese schlechte Desinfektionswirkung ist typisch für viele Schwermetallsalze.

Reihenverdünnungsteste grampositiver Bakterien

Bei einer Untersuchung der Hemmkonzentrationen der getesteten Keime ergaben sich folgende Resultate (Tab. 23):

Die Werte für Staphylokokken streuten über eine Breite von 2, 5 bis 0, 078 γ; die meisten Erreger wurden bei 0, 313 γ und 0, 15 γ gehemmt.

Sproßpilze erwiesen sich zwischen 0, 313 und 0, 039 γ um ein geringes empfindlicher; die Hemmungsdosis lag hier im wesentlichen zwischen 0, 156 und 0, 078 γ.

Die hämolysierenden und vergrünenden Streptokokken lagen in demselben Wirksamkeitsspektrum mit einem Schwerpunkt bei 0, 313 γ. Darüberhinaus wurde das Vorkommen eines nahezu resistenten Keimes beobachtet.

Zur Hemmung der "Enterokokken" war im allgemeinen eine Dosis von 0, 625 γ erforderlich. Drei weitere sensible Keime ließen sich schon bei 0, 078 γ hemmen.

Tab. 23. Zusammenfassung sämtlicher Reihenverdünnungsteste mit Triphenylzinnazetat gegen grampositive Bakterien. Angabe der Zahl der Stämme unter den Hemmkonzentrationen nach 1 Tag.

Art der Erreger	Hemmdosis in γ/ml									
	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195
Staphylokokken	0	0	1	2	2	8	4	1	0	0
Sproßpilze	0	0	0	0	0	2	6	4	1	0
häm. Streptokokken	0	0	1	0	0	5	3	1	0	0
vergr. Strept.	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0
"Enterokokken"	0	0	0	0	4	1	1	1	0	0
Pneumokokken	0	6	1	0	1	0	0	0	0	0
Meningokokken	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

Pneumokokken bewegten sich mit Hemmkonzentrationen von 5 γ an der Empfindlichkeitsgrenze, mit Ausnahme von Pneumococcus (9425) bei 0,625 γ.

Ein getesteter Meningococcus wurde bei 0,313 γ gehemmt.

Tab. 24. Hemmhofteste mit 40 γ TPZA gelöst in Alkohol pro Testblättchen. Angabe der Zahl der Stämme unter den Hemmhofkategorien.

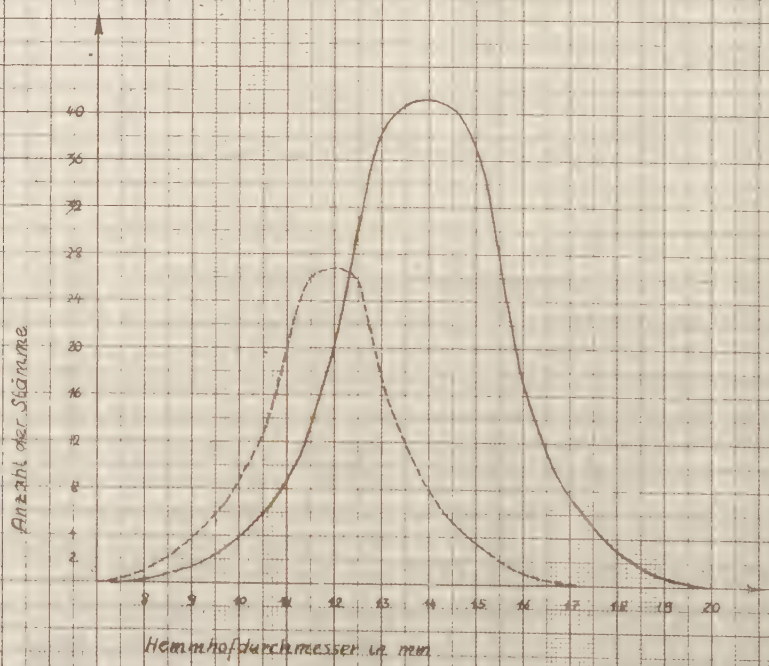
Art der Erreger	Hemmhöfe mit Durchmesser in mm					
	7-10	11-12	13-14	15-16	17-18	19-20
Staph. aureus	2	12	41	33	4	2
Strept. faec. ("Enterokokken")	3	27	16	5	1	-
Sproßpilze der Candida-Gruppe	-	-	5	7	4	2
Pneumokokken	3	-				
Meningokokken	3	-				

Diffusionsteste

Die im Reihenverdünnungstest festgestellte Wirksamkeit des TPZA ließ sich auch durch Hemmhofteste mit ungefähr 100 Staphylokokken, 50 Enterokokken, 18 Sproßpilzen und einigen Pneumokokken und Meningokokken zeigen. Für Staphylokokken und Enterokokken ließen sich Verteilungskurven zeichnen, die dem Gauß'schen Prinzip entsprachen (Abb. 2). Danach weisen die Staphylokokken in der Mehrzahl einen Hemmhofdurchmesser von 14 mm und Enterokokken 2 mm kleinere Werte auf. Aus Tab. 24 ist ersichtlich, daß Sproßpilze mit den Hemmzonen zwischen 13 und 18 mm streuen, im Mittel aber ungefähr gleich wie die Staphylokokken gehemmt werden, was den Reihenverdünnungstesten entspricht. Pneumokokken und Meningokokken bilden auf Frischblutagar Höfe von 7-10 mm.

Der Vergleich dieser Werte mit den Hemmkonzentrationen aus dem Reihenverdünnungstest erlaubt die endgültige Deutung der Hemmhofdurchmesser. Zonen mit 12 mm darf man bereits als empfindlich bezeichnen. Ebenso sind auf Frischblutagar getestete Keime mit 7 - 10 mm mäßig empfindlich bis empfindlich.

Abb. 2. Gauß'sche Verteilungskurven der Hemmhofdurchmesser von Staphylokokken und Enterokokken mit 40 γ-Blättchen TP2A auf Peptonagar. (s. Tab. 24)



DISKUSSION

Getestet wurden vorwiegend einige wichtige Keime der Mundhöhle. Das TPZA erwies sich besonders gegen apathogene und pathogene Keime dieses "Organs" als wirksam. Lediglich die Durchgangsflora, zu der die gramnegativen Bakterien zählen (BERGER, 2), also E. coli, Klebsiella-Aerobacter, und Proteus vulg., waren resistent. Die übrigen Keime aber, die Standortflora, zu der zu 90 % die vergrünenden Streptokokken und im übrigen, besonders im Falle einer Infektion, die Staphylokokken, Enterokokken, Pneumokokken, Meningokokken, Neisserien und Sproßpilze zählen (2), darf man als hochempfindlich gegen TPZA bezeichnen.

In Anbetracht der beobachteten Eiweißbindung, der Toxizität und der von WHITE (22) berichteten Schwierigkeit einen Sn-Spiegel im Blute aufrechtzuerhalten, dürfte wohl vornehmlich eine lokale Anwendung in Frage kommen. Eine protrahierte Lokaltherapie mit den üblichen Antibiotika führt in der Mundhöhle meistens durch Störung der Antagonismen zu einer Superinfektion (BERGER, 2). Unter gleichzeitiger Herabsetzung der Gesamtkeimzahl wird ein wesentlicher Teil der Mundflora zurückgedrängt. Das führt zu einer extremen Vermehrung unerwünschter Keime. So sind z.B. die Pilze gegen die meisten Antibiotika resistent. Eine längere Anwendung von Antibiotika führt also häufig zu Stomatitiden, die allerdings rasch wieder verschwinden, wenn man mit der Therapie aussetzt (2). Bei dem gegen Sproßpilze gleichermaßen wirksamen TPZA besteht diese Gefahr nicht. Bleibt der Spiegel aber unter 50 γ/ml, dann könnte mit einem Überwiegen der gramnegativen Keime zu rechnen sein. Diese gehören jedoch zur Durchgangsflora und kommen deswegen dort nur in geringer Zahl vor. Die Gefahr einer Superinfektion ist hier also wohl bedeutend geringer als bei der Anwendung von anderen Antibiotika, aber keineswegs ausgeschlossen.

Sehr wesentlich ist es zu wissen, ob unser Organismus dieses Mittel überhaupt verträgt. Die Toxizität des Zinns und seiner Verbindungen ist beachtlich. Obwohl metallisches Zinn weniger toxisch ist als die anderen Schwermetalle, werden dessen organische Verbindungen als hochtoxisch bezeichnet (REITLER und MARBERG, 19).

Von BARNES und STONER (1) wurden die Trialkylzinnverbindungen näher untersucht. Ganz allgemein kam es nach Applikation dieser Verbindung zu einer gesteigerten Nierenfunktion. Vermehrte Adrenalinausschüttung des NN-Markes führte zu einer Hyperglykämie. Die Porphyrinausscheidung war vermindert. Ferner erhöhte sich durch Vermehrung der cerebrospinalen Flüssigkeit der Liquordruck und provozierte Kopfweh und Erbrechen. Die oxydative Phosphorylierung wurde gehemmt, ATP dagegen aktiviert, was mit einem Gewichtsabfall verbunden war (1).

WHITE (22) beobachtete außerdem Veränderungen an den Nervenzellen und Degenerationen in den Nervenbahnen.

Somit ist es verständlich, daß eingehende pharmakologische und toxikologische Untersuchungen in vivo mit TPZA unumgänglich sind. Nur dann lassen sich Katastrophen vermeiden wie sie sich in Frankreich mit "Stalinon", dem Diäthylzinnjodid, ereigneten, an dem 100 Menschen starben. Die Aussichten auf eine erfolgreiche Anwendung des TPZA besteht trotzdem; denn die Giftigkeit ist nicht nur durch die Art der Verbindung bedingt, sondern auch durch die Art der Verabreichung des Mittels.

Das geht sehr deutlich aus den Untersuchungen von BRÜGGEMANN (5), HEROK und GÖTTE (11) hervor, welche sich eingehend mit der Aufnahme und Wanderung des TPZA durch den tierischen Organismus befaßt haben.

So lag die akute orale LD 50 bei Ratten zwischen 125 und 400 mg/kg Körpergewicht. Mäuse erwiesen sich mit einer LD 50 p.o. bei 90 - 100 mg/kg Körpergewicht als etwas empfindlicher. Bei einer i.p. Injektion von TPZA wurden Mengen von 13 mg und bei i.v.-Applikation von 18 mg festgestellt. Von Bedeutung ist der Nachweis, daß 150 mg Wirkstoff je kg Kaninchen täglich auf die rasierte Körperhaut aufgetragen bei einer Versuchsdauer von 10 Tagen keine allgemeinen oder nervösen Veränderungen der Versuchstiere zur Folge hatte. Somit wäre eine lokale Applikation des Mittels durchaus erfolgversprechend (5, 11). Gibt man Zinn per os, so wirkt es toxischer, wenn es schnell gegeben wird, als wenn dieselbe Menge in Einzeldosen über längere Zeit gegeben wird (REITLER und MARBERG, 19). Die Möglichkeit einer chronischen Toxizität wurde durch Untersuchungen von BRÜGGEMANN ausgeschlossen. Fütterungsversuche an Ratten über einen Zeitraum von 170 Tagen von 25 mg/kg Futter wurden ohne nachteilige Symptome vertragen (5). Man müßte also für das TPZA eine möglichst günstige Art der Verabreichung herausfinden, die diese Tatsachen berücksichtigt.

Von Zinn und Zinnstearaten wurde die Ungiftigkeit am Menschen schon nachgewiesen (19). Die dabei verabreichte Tablette enthielt 0,012 g Zinn. Die an Typhus erkrankten Patienten erhielten am ersten Tag 20 und die folgenden neun Tage 10 Tabletten pro die. Das führte zu weniger Todesfällen, einem kürzeren Krankheitsverlauf und einer günstigen Beeinflussung der Bakteriämie. Bei geringen Dosen konnte lediglich ein Temperaturanstieg beobachtet werden und bei höheren Dosen eine Abnahme der Leukozyten in den ersten drei Tagen. Die Erfolge wurden mit einer Zinnanreicherung der Bakterien in den intestinalen Lymphknoten erklärt. Die geringe Toxizität beruht nach HEROK (11) auf der schlechten Resorption des TPZA im Magen-Darmkanal. Sollte sich das TPZA für unseren Körper als ungiftig herausstellen, dann wäre ein wirksames Mittel gegen bakterielle und mykotische Infektionen gefunden. Die Behandlung müßte sich dann wahrscheinlich auf eine lokale Therapie beschränken, da TPZA sehr leicht von Eiweiß gebunden wird und ein Zinnspiegel im Blut sich nur schlecht aufrechterhalten läßt (UNGAR und BODLÄNDER, 23).

Das Gewebe dagegen hält das Zinn sehr lange; auch lagert es sich bevorzugt im lymphatischen Gewebe, in der Haut, den Muskeln, der Leber und im Knochenmark ab, was für die Bekämpfung der Osteomyelitis denkbar wäre. Am aussichtsreichsten bleibt jedoch die Wirksamkeit des Zinnsalzes gegen Sproßpilze. Der oft schwer zu bekämpfende Soor (MÜLLER, 17) könnte im Munde mit Lutschtabletten und auf der äußeren Haut mit Salben bekämpft werden. Eine Prüfung anderer Pilzkrankheiten auf ihre Empfindlichkeit gegenüber dem TPZA wäre anzuraten. Die Staphylokokken und hämolysierenden Streptokokken ließen sich im Mund z.B. bei einer Angina ohne Gefahr einer Superinfektion mit Pilzen bekämpfen. Damit könnten die üblichen antibiotischen Stoffe geschont und die Gefahr einer Resistenzsteigerung umgangen werden. Eine endgültige Lösung dieser Fragen bringt nach der toxikologischen und pharmakologischen Prüfung des Mittels jedoch erst eine bakteriologische Kontrolle von Patienten, die mit diesem Mittel behandelt worden sind.

ZUSAMMENFASSUNG

Gehemmt wurden im Reihenverdünnungsversuch vornehmlich grampositive Erreger. Am empfindlichsten erwiesen sich Sproßpilze, dann Staphylokokken, häm. Streptokokken, Meningokokken und Enterokokken. Die Hemmwerte lagen alle zwischen 0,078 und 0,625 γ/ml, außer den 5-Werten für Pneumokokken. Fast ohne Einfluß blieb TPZA auf gramnegative Keime. Lediglich Klebsiella-Aerobacter und E. coli konnten mit 50γ am Wachstum gehindert werden.

Diese Werte wurden durch Diffusionsteste erweitert. 40γ-Blättchen ergaben bei Staphylokokken im wesentlichen Durchmesser von 14 mm, bei Enterokokken 12 mm und bei Sproßpilzen 13-18 mm.

Die Hemmkonzentrationen erhöhten sich durch Serumzusatz ganz bedeutend. Staphylokokken, häm. Streptokokken, Enterokokken und Sproßpilze wiesen 8-32 mal größere Hemmwerte als ohne Serum auf. Diese starke Eiweißbindung ermöglichte im Diffusionstest auf Frischblutagar kaum verwertbare kleine Ergebnisse.

Einen ebenso störenden Einfluß auf die TPZA-Wirkung übte das metallbindende Natriumthioglykolat aus; die TPZA-Wirkung beruht also hauptsächlich auf dem metallischen Teil der Verbindung. Speichel blieb ohne Einfluß auf die Hemmkonzentration.

Im Praediffusionsversuch ergab sich, daß TPZA langsam aber stetig vom Filterpapier abdiffundierte. Die Diffusionsgeschwindigkeit blieb über Stunden konstant. Diese verlangsamte Abgabe vom Filterpapier an das Agargel wurde auch in Abgabeversuchen beobachtet. Kleinere Hemmhofe darf man also durchaus noch als empfindlich bezeichnen.

Der Subkulturversuch zeigte deutlich die bakterizide Wirkung des TPZA auf Pneumokokken, h. Streptokokken, Klebsiell.-Aerobacter und E. coli. Sproßpilze waren zum Teil erst bei der nächst höheren Konzentrationsstufe abgetötet. Staphylokokken dagegen konnten nur bakteriostatisch gehemmt werden. Die bakterizide Wirkung macht sich hier erst nach drei Tagen TPZA-Einwirkung bemerkbar.

Eine Resistenzsteigerung ein und desselben Stammes war nach der 6. und 8. Passage durch Steigerung auf den 7-8fachen Wert der Ausgangskonzentration möglich.

Im Keimträgerversuch konnte eine geringe Desinfektionswirkung in 0,2%iger Lösung beobachtet werden. Nach 3 min. waren die Keime bakteriostatisch gehemmt.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BARNES, J.M. und STONER, H.B.:
The Toxicology of Tin Compounds. Pharm. Reviers 11 (2), Part. 1.

2. BERGER, U.: Mikrobiologie der Mundhöhle. Urban und Schwarzenberg. München - Berlin (1955).

3. BITTER, L.: Über das Absterben von Bakterien auf den wichtigeren Metallen und Baumaterialien. Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. 69 (3): 483-498 (1911).

4. BRANDENBURG, H.:
Zur Bestimmung der Empfindlichkeit bakterieller Krankheitserreger gegen Antibiotica und Chemotherapeutica. Bundesgesundheitsbl. 19: 308-311 (1959).

5. BRÜGGEMANN, J.:
Gutachten über Untersuchungen im Zusammenhang mit dem Wirkstoff "Brestan". V.P. 1940 v. 6.5.1957.
Vorläufige Stellungnahme zur Frage der Toxizität von "Brestan".
Gutachten zur Frage der Toxizität von "Brestan" bei einsilierten Rübenblättern v. 15.6.59.
Zit. nach "HOECHST" Farbwerke, Lit.-verz. Nr. 12.

6. COLLIER, W.A.: Die Wirksamkeit einiger metallorganischen Blei- und Zinnverbindungen.
Z. Hyg. Infektkr. 110: 169-174 (1929).

7. "DESOWAG"-CHEMIE, Düsseldorf: Prospekt.

8. FONTES, A.: Memórias do Institutó Oswaldo Cruz. S. 299 (1927).

9. FROUIN, A. und GREGOIRE, R.:
Action de l'étain métallique et de l'oxyde d'étain dans les infections à staphylocoque. C. rend. hebd. séances de l'Acad. des Sciences. 164: 794-797 (1917).

10. GELLERT, R.: Biologische in-vitro Testung der antibiotischen Wirkung. Ein Einblick in Methodik und Ergebnisse. I. Mitteilung. Die Testmethoden. Mh. f. Tierheilk. 8:88-100 (1956).

11. HEROK, J. und GÖTTE, H.:
Radiometrische Analyse von Triphenylzinnazetat-113Sn im Stoffwechsel von Pflanze und Tier. Zit. nach "HOECHST".

12. "HOECHST"-Farbwerke: Nachrichten über Pflanzenschutz und Düngemittel. 11 (1961).

13a. VAN DER KERK, G.J.M. und LUIJTEN, J.G.: Investigations on organo tin compounds. III. The biocidal properties of organo- tin compounds. J. appl. Chem. 4: 314-319 (1954).

b. VAN DER KERK, G.J.M. und LUIJTEN, J.G.: Investigations on organo tin compounds. XIV. J. appl. Chem. 11: 37 (1961).

c. VAN DER KERK, G.J.M. und LUIJTEN, J.G.: Investigations on organo tin compounds. IV. V. VI. J. appl. Chem. 6: 49 (1956); ibidem 6: 56 (1956).

14. KLEIN, P.: Bakteriologische Grundlagen der chemotherapeutischen Laboratoriumspraxis. Berlin-Göttingen-Heidelberg (1957).

15. KLIEWE, H., HEICKEN, K. und Mitglieder der deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie: Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel. Zbl. Bakt. 173: 307-317 (1958).

16a. LINZENMEIER, G.: Hemmhofteste mit Demethylchlortetracyclin (DMCT). Chemotherapia I: 205-214 (1960).

b. LINZENMEIER, G.: Problèmes actuels de la chimiothérapie des maladies bacteriennes. Therap. d. Monats 5: 9-16 (1960).

c. LINZENMEIER, G.: Zur Bewertung einer vereinfachten Hemmhofmethode. Zbl. Bakt. (I. Abt. Orig.) 167: 327-329 (1956).

d. LINZENMEIER, G.: Die Resistenzbestimmung. Indikation, Fehlerquellen und Leistungsfähigkeit. Dtsch. med. Wschr. 84: 1002-1005 (1950).

17. MÜLLER, R.: Medizinische Mikrobiologie. Urban und Schwarzenberg. München - Berlin (1950).

18. NETER, E., MURDOCK, M.R. und KUNZ, E.H.: The influence composition of culture media on growth inhibition of various microorganisms by antibiotic discs. Antibiot. and Chemoth. 2: 35-41 (1952).

19. REITLER, R. und MARBERG, K.:
The bactericidal effect of tin and its application to the treatment of typhoid fever. Trans. roy. soc. Med. 36: 305-318 (1943).

20. RICO, T.: Action de l'étain et quelques-uns de ses composés insolubles sur le staphylocoque doré. C.r.Soc. de Biol. 90: 1098-1100 (1924).

21. DOS SANTOS, N.: Quelques essais sur l'influence exercée par l'étain sur les bacilles de la tuberculose in vitro. Compt. rend. séances Soc. Biol. 101: 383-384 (1929).

22. WHITE, T.P.: Über die Wirkungen des Zinns auf den tierischen Organismus. Arch. exp. Path. Parmak. 13: 53-69 (1881).

23. UNGAR, E. und BODLÄNDER, G.:
Über die toxischen Wirkungen des Zinns. Z. Hyg. Infektionskr. 2: 241-296 (1887).

Tab. 25. Diffusionsteste einer Reihenverdünnung mit TPZA am "Zahnrad" gegen Staph. aureus auf Resistenzagar.

Stamm Nr.	Konzentration in γ/Zahnradende					
	40	20	10	5	2,5	1,25
8012	16	16	15	14	14	10
8699	18	16	14	12	12	10
8716	18	16	14	14	12	10
9036	18	15	14	13	12	12
9281	13	11	11	10	9	8
9311	17	15	13	13	13	12
9312	14	13	11	9	8	8
9341	15	13	13	11	11	8
9348	13	12	11	11	10	9
9694	13	12	11	11	10	9
9896	15	14	13	12	11	11
W 689	18	17	15	14	11	10

Tab. 26. Diffusionsteste einer Reihenverdünnung mit TPZA am "Zahnrad" gegen vergrünende Streptokokken auf Frischblutagar.

Stamm Nr.	Konzentration in γ/Zahnradende					
	40	20	10	5	2,5	1,25
8619	8	8	6	6	5	5
8624	8	7	6	6	5	5
9037	8	8	7	6	6	5
9281	9	8	7	7	6	5
9814	6	5	4	4	4	4

Tab. 27. Diffusionsteste einer Reihenverdünnung mit TPZA am "Zahnrad" gegen hämolysierende Streptokokken auf Frischblutagar.

Stamm Nr.	Konzentration in γ/Zahnradende					
	40	20	10	5	2,5	1,25
8543	8	7	6	6	6	5
9348	7	7	6	6	5	4
9661	7	6	6	5	4	4
9722	7	6	6	5	4	4
L 63	8	7	6	6	5	5

Tab. 28. Diffusionsteste einer Reihenverdünnung mit TPZA am "Zahnrad" gegen Strept. faecalis ("Enterokokken") auf Resistenzagar.

Stamm Nr.	Konzentration in γ/Zahnradende					
	40	20	10	5	2,5	1,25
8649	18	16	16	15	12	8
9780	13	11	10	7	7	6
9196	13	12	11	11	9	7
9797	12	11	10	9	8	7
9802	13	12	11	9	8	7

Tab. 29. Mittelwerte der Diffusionsteste aus Tab. 25-28.

Art der Erreger	Konzentration in γ/Zahnradende					
	40	20	10	5	2,5	1,25
Staph. aur.	15,6	14,1	12,9	11,9	11,0	9,7
Strept. häm.	7,4	6,6	6	6,2	4,8	4,4
Strept. vergr.	7,8	7,2	6	5,8	5,2	4,8
Strept. faec.	13,8	12,4	11,6	10,2	8,4	7

Tab. 30. Reihenverdünnungsteste mit TPZA gegen Staphylokokken.

Zeichenerklärung: o = kein Wachstum
(+) = geringes Wachstum
+ = starkes Wachstum

Stamm Nr.	Konzentration in γ/ml 10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195	Kontrolle	Wachstum nach Tagen
2609	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		3!
2616	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		3!
2621	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		3
2622	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		3!
2535	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		3
9281	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		3
9311	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+		3

1. Fortsetzung zu Tab. 30.

Stamm Nr.	Konzentration in γ/ml 10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195	Kontrolle	Wachstum nach Tagen
9312	o	o	o	(+)	+	+	+	+	+	+	+	1
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		2
	o	+	+	+	+	+	+	+	+	+		3
9339	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		3!
9348	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	(+)	+	+	+	+	+	+		3
W 689	o	o	o	o	(+)	(+)	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	(+)	(+)	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+		3
7868	o	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+		3
8012	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		3
8699	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+		3

2. Fortsetzung zu Tab. 30.

Stamm Nr.	Konzentration in γ/ml 10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195	Kontrolle	Wachstum in Tagen
8716	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+		3!
9036	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+		3
9341	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+		3
9281	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		3!

Tab. 31. Reihenverdünnungsteste mit TPZA gegen *Candida albicans*.

Zeichenerklärung: o = kein Wachstum ++ = deutliche Trübung
+ = schwache Trübung +++ = starke Trübung

Stamm Nr.	Konzentration in γ/ml 10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195	Kontrolle	Wachstum in Tagen
W 92	o	o	o	o	o	o	o	+	++	+++	+++	1
	o	o	o	o	o	o	o	+	++	+++		3!
	o	o	o	o	o	o	+	++	+++	+++		4
W 699	o	o	o	o	o	o	o	o	++	+++	+++	1
	o	o	o	o	o	o	o	++	+++	+++		3
	o	o	o	o	+	++	+++	+++	+++	+++		4
1413	o	o	o	o	o	o	o	o	++	++	+++	1
	o	o	o	o	o	o	o	o	++	+++		3
	o	o	o	o	o	o	o	o	++	+++		4
1548	o	o	o	o	o	o	o	o	+	++	+++	1
	o	o	o	o	o	o	o	+	++	+++		3
	o	o	o	o	o	o	o	++	++	+++		4
1554	o	o	o	o	o	o	o	o	++	+++	+++	1
	o	o	o	o	o	o	o	+	++	+++		3
	o	o	o	o	o	o	o	+	+++	+++		4
1635	o	o	o	o	o	o	o	+	++	+++	+++	1
	o	o	o	o	o	o	o	+	++	+++		4!

Fortsetzung zu Tab. 31.

Stamm Nr.	Konzentration in γ/ml 10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195	Kontrolle	Wachstum in Tagen
2094	o	o	o	o	o	o	o	+	+	++	+++	1
	o	o	o	o	o	o	o	+	++	+++		3
	o	o	o	o	o	o	o	+	++	+++		4
1970	o	o	o	o	o	o	o	+	++	+++	+++	1
	o	o	o	o	o	o	o	+	++	+++		3
	o	o	o	o	o	o	o	+	+++	+++		4
2094	o	o	o	o	o	o	o	o	o	+	+++	1
	o	o	o	o	o	o	o	o	+	++		3
	o	o	o	o	o	o	o	+	++	+++		4
2180	o	o	o	o	o	o	+	+	++	+++	+++	1
	o	o	o	o	o	o	+	++	++	+++		3
	o	o	o	o	o	o	+	++	+++	+++		4
2283	o	o	o	o	o	o	o	+	++	+++	+++	1
	o	o	o	o	o	o	o	++	++	+++		3
	o	o	o	o	o	o	+	++	+++	+++		4
9416	o	o	o	o	o	o	o	++	+++	+++	+++	1
	o	o	o	o	o	+	+++	+++	+++	+++		3
	o	o	o	o	++	+++	+++	+++	+++	+++		4
9423	o	o	o	o	o	o	++	+++	+++	+++	+++	1
	o	o	o	o	o	o	+++	+++	+++	+++		3
	o	o	o	o	o	+++	+++	+++	+++	+++		4

Tab. 32. Reihenverdünnungsteste mit TPZA gegen hämolysierende Streptokokken.
Zeichenerklärung siehe Tab. 31.

Stamm Nr.	Konzentration in γ/ml 10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195	Kontrolle	Wachstum in Tagen
1628	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		3!
1689	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+		3
1906	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+		3!
2069	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+		3
8543	o	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	o	o	+	+		3!
9348	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		2
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		3
9661	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+		3!
9722	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		3!

Fortsetzung zu Tab. 32.

Stamm Nr.	Konzentration in γ/ml 10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195	Kontrolle	Wachstum in Tagen
L 63	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		3
W 203	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+		3

Tab. 33. Reihenverdünnungsteste mit TPZA gegen vergrünende Streptokokken.
Zeichenerklärung siehe Tab. 30.

Stamm Nr.	Konzentration in γ/ml 10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195	Kontrolle	Wachstum nach Tagen
8619	o	o	o	o	o	o	o	o	o	(+)	+	1
	o	o	o	o	o	o	o	o	o	+		2
	o	o	o	o	o	o	o	o	+	+		3
8624	o	o	o	o	o	o	o	o	(+)	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	o	(+)	+	+		2
	o	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+		3
9281	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		3!
9814	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+		3

Tab. 34. Reihenverdünnungsteste mit TPZA gegen Strept. faecalis (Enterokokken) und Meningokokken. Zeichenerklärung siehe Tab. 30.

Art der Erreger	Konzentration in γ/ml 10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0.0195	Kontrolle	Wachstum nach Tagen
Strept. f.	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+	+	1
3501	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		3
Strept. f.	o	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	1
3511	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		3
Strept. f.	o	o	o	o	o	(+)	(+)	+	+	+	+	1
3531	o	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		3
Strept. f. 3546	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
Strept. f.	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	1
8649	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		3!
Strept. f.	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+	1
9716	o	o	o	o	(+)	+	+	+	+	+		2
	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+		3
Strept. f.	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+	1
9802	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		3!
Meningocc.	o	o	o	o	o	o	o	o	(+)	(+)	+	1
9699	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		2
	o	o	o	o	o	o	+	+	+	+		3

Tab. 35. Reihenverdünnungsteste mit TPZA gegen Pneumokokken.
Zeichenerklärung siehe Tab. 30.

Stamm Nr.	Konzentration in γ/ml 10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,0195	Kontrolle	Wachstum nach Tagen
1330	o	o	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		2
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		3
1361	o	o	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		2
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		3
1380	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		3!
1667	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		3!
4610	o	o	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		2
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		3
6110	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	+	+	+	+	+	+	+		3!
6130	o	o	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	1
	o	o	(+)	+	+	+	+	+	+	+		2
	o	o	+	+	+	+	+	+	+	+		3
9425	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+	+	1
	o	o	o	o	o	+	+	+	+	+		3!

Ergebenst danken möchte ich Herrn Professor Dr. GÖTZ LINZENMEIER für die Überlassung des Themas und die vielen wertvollen Ratschläge.

Ebenso gilt mein Dank dem Vorstand des Max v. Pettenkofer-Instituts für Hygiene und Mediz. Mikrobiologie der Universität München, Herrn Prof. Dr. Dr. H. EYER, der mir die Durchführung der Arbeit am Institut ermöglichte.

L E B E N S L A U F

Ich, Karl Friedrich Muschel, wurde am 4. März 1937 als Sohn des Bäckermeisters Fritz Muschel und seiner Gemahlin Hildegard Muschel, geb. Braunger, in Bad Waldsee, Kreis Ravensburg, geboren.

Von 1942 bis 1948 besuchte ich die Volksschule in Bad Waldsee und trat dann in die dortige Oberrealschule über. Ab 1954 war ich interner Schüler des Kollegs der Schulbrüder in Illertissen, wo ich 1957 die Reifeprüfung ablegte.

Mein Studium der Zahnheilkunde begann ich anschließend in Würzburg und bestand dort im SS 1960 das Physikum. Die folgenden Semester studierte ich in München, wo ich am 13.2.1964 die zahnärztliche Prüfung ablegte.